

**CYTOKINE-INHIBITING AGENT****Publication number:** JP8073453**Publication date:** 1996-03-19**Inventor:** ADACHI SHOICHI; OMORI KAZUNORI; ONO YUKIHISA**Applicant:** OTSUKA PHARMA CO LTD**Classification:**

**- international:** C07D401/04; A61K31/495; A61P1/00; A61P25/00; A61P29/00; A61P37/00; A61P43/00; C07D401/00; A61K31/495; A61P1/00; A61P25/00; A61P29/00; A61P37/00; A61P43/00; (IPC1-7): C07D401/04; A61K31/495

**- european:****Application number:** JP19940209518 19940902**Priority number(s):** JP19940209518 19940902

Report a data error here

**Abstract of JP8073453**

**PURPOSE:** To obtain the TNF-&alpha; inhibitor, interleukin-6 inhibitor, interleukin-8 inhibitor, and interleukin-&gamma; inhibitor containing a benzoheterocyclic compound as an active ingredient.

**CONSTITUTION:** The cytokine-inhibiting agent contains a compound of the formula (R<1> , R<2> are lower alkyl; X<1> is halogen) or its salt, especially 7-(3-methyl-1- piperazinyl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-5-methyl-1,4-dihydro-4-oxoquinolin e-3-carboxylic acid in an amount of 1-70wt.%, preferably 1-30wt.%, based on the whole medicinal preparation composition. The TNF-&alpha; inhibitor is useful for treating and preventing chronic articular rheumatism, endotoxin shock, cardiac infarction, etc. The IL-6 inhibitor is useful for treating and preventing inflammatory diseases, tunica mucosa damage caused by Helicobacter pylori, etc. The interferon-&gamma; inhibitor is useful for treating and preventing endotoxin shock, sepsis, the chronic inflammatory diseases of central nervous system, etc. The cytokine inhibitor is administered at a dose of 0.1-1000mg/kg/day.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-73453

(43) 公開日 平成8年(1996)3月19日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 401/04	2 4 1			
A 6 1 K 31/495	A A B			
	A B A			
	A B G			
	A C J			

審査請求 未請求 請求項の数5 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平6-209518	(71) 出願人	000206956 大塚製薬株式会社 東京都千代田区神田司町2丁目9番地
(22) 出願日	平成6年(1994)9月2日	(72) 発明者	足立 正一 群馬県高崎市石原町3493の9
		(72) 発明者	大森 和則 徳島県板野郡北島町中村字岸ノ上1番地の120
		(72) 発明者	小野 幸久 徳島県板野郡北島町鍋浜字川久保41番地の18
		(74) 代理人	弁理士 三枝 英二 (外4名)

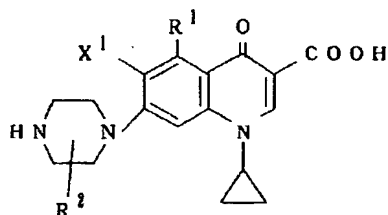
(54) 【発明の名称】 サイトカイン阻害剤

(57) 【要約】

【目的】 本発明は、TNF- $\alpha$ 阻害剤、インターロイキン-6阻害剤、インターロイキン-8阻害剤及びインターフェロン $\gamma$ 阻害剤を提供することを目的とする。

【構成】 本発明のTNF- $\alpha$ 阻害剤、インターロイキン-6阻害剤、インターロイキン-8阻害剤及びインターフェロン $\gamma$ 阻害剤は、一般式

【化1】



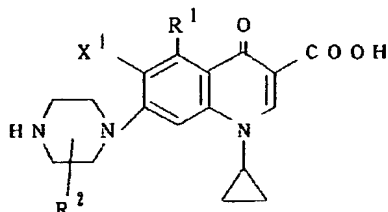
〔式中R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ低級アルキル基を示す。  
X<sup>1</sup>はハロゲン原子を示す。〕で表わされる化合物又は  
その塩を有効成分として含有するものである。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



【式中R¹及びR²はそれぞれ低級アルキル基を示す。X¹はハロゲン原子を示す。】で表わされる化合物及びその塩からなる群より選ばれたベンゾヘテロ環化合物の少くとも1種を有効成分として含有するTNF-α阻害剤。

【請求項2】 請求項1に記載のベンゾヘテロ環化合物の少くとも1種を有効成分として含有するインターロイキン-6阻害剤。

【請求項3】 請求項1に記載のベンゾヘテロ環化合物の少くとも1種を有効成分として含有するインターロイキン-8阻害剤。

【請求項4】 請求項1に記載のベンゾヘテロ環化合物の少くとも1種を有効成分として含有するインターフェロン-γ阻害剤。

【請求項5】 有効成分が7-(3-メチル-1-ピペラジニル)-1-シクロプロピル-6-フルオロ-5-メチル-1,4-ジヒドロ-4-オキソキノリン-3-カルボン酸又はその塩である請求項1~4に記載の阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はサイトカイン阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術とその課題】 生体の免疫応答、炎症反応、造血反応等の生体機能の発現を抑制する蛋白因子として数多くのサイトカインが発見され、その構造や作用が解明されるにつれて、該サイトカインの作用が免疫系に限らず、生体の様々な機能に影響を及ぼし、生体の発生、分化、恒常性維持や病態生理とも関連深いことが明らかにされつつある。

【0003】 上記サイトカインの中でTNF (Tumor Necrosis Factor: 腫瘍壊死因子) は、抗腫瘍性のサイトカインとして発見され、抗癌剤として期待されたが、その後、悪液質誘発因子であるカケチンと同一であることが判り、IL-1等の他のサイトカインの産生刺激作用や、線維芽細胞に対する増殖作用、エンドトキシンショック誘発作用、内皮細胞の白血球付着蛋白であるICAM-1、ICAM-2 (Intercellular adhesion molecules)、ELAM-1 (Endothelial Leukocyte adhesion

2

on molecule-1) 等を増加させて白血球が内皮細胞に付着するのを促進する作用、骨吸収の作用、軟骨破壊作用等の関節炎の成因作用等が報告されている [Beutler, B., et al., Nature, 316, 552-554(1985); Peetre, C., et al., J. Clin. Invest., 78, 1694-1700(1986); Kurt-Jones, E.A., et al., J. Immunol., 139, 2317-2324(1987); Bevilacqua, M.P., et al., Science, 241, 1160-1165(1989); Akatsu, K. & Suda, T., Medical Practice, 8 (9) 1393-1396(1991)]。

10 【0004】 更に、細菌や寄生虫の感染症では、血液中や髄液中のTNFの濃度が上昇すると報告されている [Mituyama, M., 医学のあゆみ, 159 (8) 467-470(1991); Nakao, M., 医学のあゆみ, 159 (8) 471-474(1991)]。

【0005】 また、慢性関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis; RA) でも、関節液中や血清中にTNF活性が認められ、この活性はTNF-α活性であると報告されている [Saxne, T., et al., Arthritis Rheum., 31, 1041(1988); Chu, C.Q., et al., Arthritis Rheum., 34, 1125-1132(1991); Macnaul, K.L., et al., J. Immunol., 145, 4154-4166(1990); Brennan, F.M., et al., J. Immunol., 22, 1907-1912(1992); Brennan, F.M., et al., Br. J. Rheum., 31, 293-298(1992)]。

【0006】 また、重篤な呼吸器疾患であるARDS (Adult Respiratory Distress Syndrome: 成人呼吸窮迫症候群) 患者の喀痰中でもTNF濃度が上昇していることが報告され [Millar, A.B., et al., Nature, 324, 73(1986)]、ウィルス性肝炎の劇症化にもTNFが関与するとされている [Muto, Y., et al., Lancet, ii, 72-74(1986)]。

【0007】 また、急性心筋梗塞のような心筋虚血時に血液中のTNF-αの濃度が高くなっていることが報告されており [Latini, R., et al., J. Cardiovasc. Pharmacol., 23, 1-6(1994)]、このような病態におけるTNF-αの関与が示唆されている [Lefer, A.M., et al., Science, 249, 61-64(1990)]。更に最近、TNF-αが心筋収縮力を良く制することが報告されている [Finkel, M.S., et al., Science, 257, 387-389(1992); Pagani, D.F., et al., J. Clin. Invest., 90, 389-398(1992)]。

【0008】 また、抗原刺激により活性化されたB細胞が増殖し、抗体産生細胞へと分化していく過程においては、いくつかのサイトカインの作用が必要である。そのうち増殖に関与するサイトカインとしては、BCGF (B cell growth factor) I及びIIに相当するインターロイキン4及び-5が知られており、また上記分化に関与するサイトカインとしては、BCDF (B cell differentiation factor) であるインターロイキン-6 (以下IL-6という) が知られている。

【0009】 上記IL-6は当初、EBウイルスで形質転換したB細胞株に免疫グロブリン産生を誘導する因子

として、末梢血単球培養上清中に見出され、その後、B細胞刺激因子2 (B cell stimulatory factor-2; BSF-2)、インターフェロン- $\beta$ 2 (IFN- $\beta$ 2)、26 kDa 蛋白 (26 kDa protein)、ヘパトサイト刺激因子 (Hepatocytes stimulatory factor)、ハイブリドーマプラズマサイトマ成長因子 (hybridoma plasmacytoma growth factor; HPGF) などの、それぞれ独立した因子として追求されてきたが、1986年に平野等によりそのクローニングがなされ、これらすべてが同一のサイトカインであることが明らかにされた (Hirano, T., et al., Nature, 324, 73, (1986))。

【0010】該IL-6は、B細胞の抗体産生系に重要な役割を果たしているだけでなく、T細胞に増殖分化を誘導することや、肝細胞に作用して急性期蛋白の合成を誘導すること、造血系細胞に対して多分化能コロニーの形成を促すことなど、免疫系だけでなく造血系、神経系、肝などの生体防御系の重要な因子であることが明らかにされている。

【0011】現在、IL-6及びその産生乃至分泌異常と各種疾患との関連などに関する報告、知見としては、具体的には次のような各種のものが挙げられる。

【0012】即ち、高ガンマグロブリン血症、種々の自己抗体陽性を示す慢性関節リウマチ (RA)、全身性エリテマトーデス (SLE) など一連の自己免疫疾患においては、ポリクローナルなB細胞の活性化が誘導され、RA患者の関節液中には大量のIL-6が存在し、滑膜組織に浸潤した活性化T細胞やB細胞によってIL-6が産生される (Hirano, et al., Eur. J. Immunol., 18, 1797, (1988))。

【0013】自己免疫疾患様症状を呈する心房内粘液腫の患者においては、腫瘍を摘除することによりその臨床症状が消失することが報告されており、腫瘍細胞により産生されるなんらかの因子によりその症状が誘導されるものと考えられる。これらの腫瘍細胞によっても大量のIL-6が産生されていることが示され、IL-6の異常産生とポリクローナルB細胞異常症との関連が示唆される (Hirano, T., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 82, 5490, (1985))。

【0014】IL-6はマウスプラズマサイトーマの増殖因子であることが報告されていたが、ヒトの多発性骨髄腫患者より得たミエローマ細胞においてもその増殖が抗IL-6抗体により抑制されることから、IL-6がミエローマ細胞の自己増殖因子である可能性が明らかにされ、ポリクローナルB細胞異常症のみならず、ミエローマなどモノクローナルB細胞異常症の発症にも深く関与していることが示唆された (Kawano, M., et al., Nature, 332, 83, (1988))。

【0015】原因不明のリンパ節腫脹を伴うCastlemans症候群においては、血中に高いIL-6活性が認められ、高ガンマグロブリン血症や急性期蛋白の高値

がみられる。この腫脹リンパ節の摘除によっても血中のIL-6活性が正常血清レベルになり、臨床症状も回復する (Yoshizaki, K., et al., Blood, 74, 1360, (1989))。

【0016】原発性糸球体腎炎患者尿中には、健康人や微小変化型ネフローゼ症候群の患者に比べて、有意なIL-6活性が認められる。腎生検組織標本におけるメサンギウム細胞の増殖度と尿中IL-6活性は相関を示す。実際、in vivoのラット腎メサンギウム細胞の培養系にIL-6を添加すると濃度依存的な増殖が誘導され、IL-6がメサンギウム細胞の増殖因子であることが明らかにされた (Horii, Y., et al., J. Immunol., 143, 3949, (1989))。

【0017】更に、インターロイキン-8 (以下IL-8という) は好中球活性化因子ともいわれ、72個のアミノ酸からなる塩基性のヘパリン結合性ポリペプチドで、活性化マクロファージのみならず種々の組織細胞より産生されるサイトカインである。

【0018】IL-8は、1) 好中球、T細胞、好塩基球に対して走化因子であり、2) 好中球を活性化しリソソーム酵素の放出、好中球の血管内皮細胞への付着の変化、カンジダ増殖抑制を亢進し、また3) 関節内に注入すると大量の好中球湿潤を伴う関節滑膜の破壊が見られ、更に4) 好中球上の接着因子の発現増強作用、5) 好塩基球でのヒスタミン放出調節、6) 人工臓器での好中球の活性化作用等多くの生理活性を持っている。また、IL-8は炎症性サイトカインともいわれ、IL-8の異常発生、IL-8への過剰反応は炎症性疾患の原因になると考えられている。

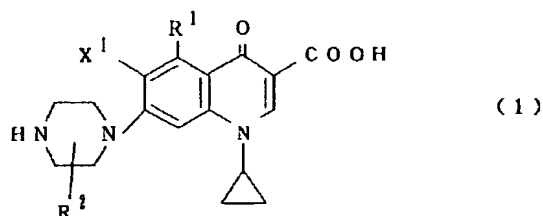
【0019】インターフェロン $\gamma$ は1965年にWheelerにより始めて報告され、T細胞やナチュラルキラー (NK) 細胞等免疫担当細胞を特異的又は非特異的抗原で刺激した場合に産生され、抗ウィルス活性因子としてよりも所謂免疫モジュレーター (immunomodulator) の1種として認識されている (荒井澄夫, 赤司昭; 臨床免疫, 25(5), 547-553, 1993年)。ところでインターフェロン $\gamma$ はシュワルツマン反応 (シュワルツマン現象ともいう。Shwartzman reaction: 細菌の培養濾液を皮内に注射しておき、約20時間後に同じ液を静脈注射すると、皮内注射局所が出血・壊死を伴う炎症を起す反応をいい、また2度とも静脈注射すると、腎・肝・肺・心等の多臓器の障害を伴うことがG. Sanarelliにより見い出され、シュワルツマン・サナレリ現象とも呼ばれている。) に関与しており、抗インターフェロン $\gamma$ 抗体が該シュワルツマン反応を抑制すると報告されている (Alfonso Billian, Immunology Today, 9, 37-40 (1988))。全身性エリテマトーデス (SLE) の患者の血清中のインターフェロン $\gamma$ 濃度が上昇しており、シェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome) やリウマチ性多発筋痛症 (polymyalgia rheumatica) の患者の血清中でもインターフェロン

$\gamma$ 濃度が上昇していることが報告され(M. AL-Janadi, S. A. L-Balla, A. AL-Dalaan, and S. Raziuddin, J. Clin. Immunol., 13, 58-67(1993))、また多発性硬化症(MS)の患者にインターフェロン $\gamma$ を投与すると悪化すると報告もある(H. S. Panitch and C. T. Bever, Jr., J. Neuroimmunol., 46, 155-164(1993))。

【0020】一方、一般式(1)

【0021】

【化2】



(1)

【0022】〔式中R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ低級アルキル基を示す。X<sup>1</sup>はハロゲン原子を示す。〕で表わされる化合物及びその塩からなる群より選ばれたベンゾヘテロ環化合物は、特開平1-230558号公報に記載されている公知の化合物であり、それらが抗菌剤として有用であることも知られている。

【0023】

【問題点を解決するための手段】本発明者らは、新しいサイトカイン阻害剤を開発すべく種々研究を重ねる内に、上記一般式(1)で表わされるベンゾヘテロ環化合物、殊に7-(3-メチル-1-ピペラジニル)-1-シクロプロピル-6-フルオロ-5-メチル-1,4-ジヒドロ-4-オキソキノリン-3-カルボン酸又はその塩がTNF- $\alpha$ 阻害剤、IL-6阻害剤、IL-8阻害剤及びインターフェロン $\gamma$ 阻害剤として好適に使用される化合物になり得ることを見出し、ここに本発明を完成するに至った。

【0024】即ち、本発明は、上記一般式(1)で表わされる化合物及びその塩からなる群より選ばれたベンゾヘテロ環化合物の少なくとも1種を有効成分として含有するTNF- $\alpha$ 阻害剤、IL-6阻害剤、IL-8阻害剤及びインターフェロン $\gamma$ 阻害剤に係る。

【0025】本発明のTNF- $\alpha$ 阻害剤は、TNF- $\alpha$ 産生異常に伴う各種疾患、特に慢性関節リウマチ、エンドトキシンショック、ARDS等の各疾患、心筋虚血の病態である心筋梗塞等の予防乃至治療剤として、また冠動脈バイパス手術(CABG)時に、好適に使用される。

【0026】本発明のIL-6阻害剤は、IL-6分泌乃至産生に起因する各種疾患、例えば癌カヘキシー、心房粘液腫、慢性関節リウマチ、自己免疫疾患、キャッスルマン氏病、ミエローマ、レンネルトリンパ腫、メサングウム増殖性腎炎、乾癬、エイズに伴うカポジ肉腫、閉経後骨粗しょう症等の治療薬として有効である。

【0027】本発明のIL-8阻害剤は、IL-8産生抑制作用に基づいて、急性又は慢性炎症性疾患の予防、治療に有用である。また人工臓器、血管の生体適合性を高めるためにも有用である。炎症性疾患としては、炎症性角化症(乾癬等)、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎等の炎症性皮膚疾患、慢性関節リウマチ、全身性エリトマトーデス(SLE)、ベーチェット病等の慢性炎症性疾患である自己免疫疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎等の炎症性腸疾患、B型肝炎、C型肝炎、アルコール性肝炎、薬物アレルギー性肝炎等の炎症性肝疾患、糸球体腎炎等の炎症性腎疾患、気管支炎等の炎症性呼吸器疾患、口内炎、声帯炎、人工臓器・人工血管使用時に起こる炎症等が挙げられるが、本発明の炎症性疾患はこれらに限定されるものではない。

【0028】また、本発明のIL-8阻害剤は、胃粘膜障害の発生、再発に関与しているといわれているヘリコバクター・ピロリ(Helicobacter, pylori)(以下、H.ピロリという)によるIL-8産生細胞(末梢血単球、組織マクロファージ、大顆粒状リンパ球、Tリンパ球、好中球、繊維芽細胞、血管内皮細胞、皮膚角化細胞、肝細胞、星状細胞、気管支上皮細胞、胃癌由来樹立細胞等)からのIL-8産生促進作用に対して抑制作用を有しており、H.ピロリが原因で起こる胃粘膜の障害、再発の予防にも有用である。

【0029】また、本発明のインターフェロン $\gamma$ 阻害剤は、インターフェロン $\gamma$ 産生に起因する各種疾患、例えばエンドトキシンショック、敗血症等の局所及び全身性感染症に伴う炎症、慢性関節リウマチ、全身性エリトマトーデス(SLE)等の膠原病、多発性硬化症(MS)等の中枢神経系の慢性炎症性疾患等の治療薬として有用である。

【0030】上記一般式(1)において示される各基は、より具体的には、それぞれ次の通りである。

【0031】低級アルキル基としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル基等の炭素数1~6の直鎖状又は分枝鎖状アルキル基を例示できる。

【0032】ハロゲン原子としては、例えば弗素原子、塩素原子、臭素原子及び沃素原子が挙げられる。

【0033】本発明で有効成分として用いられる一般式(1)の化合物の内、酸性基を有する化合物は、薬理的に許容し得る塩基性化合物と塩を形成し得る。斯かる塩基性化合物としては、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化カルシウム等の金属水酸化物、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等のアルカリ金属炭酸塩又は重炭酸塩、ナトリウムメチラート、カリウムエチラート等のアルカリ金属アルコラート等を例示できる。また、本発明において有効成分とする一般式(1)の化合物中、塩基性基を有する化合物は、通常薬理的に許容される酸と容易に塩を形成し得る。

斯かる酸としては、例えば硫酸、硝酸、塩酸、臭化水素酸等の無機酸、酢酸、p-トルエンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、安息香酸等の有機酸等を例示できる。

【0034】上記一般式(1)の化合物又はその塩(以下「本発明化合物」という)は、そのままもしくは慣用される医薬製剤担体を用いて一般的な医薬製剤組成物の形態として、ヒト及びその他の動物に投与することができる。上記医薬製剤担体、製剤形態(投与単位形態)、その調製、その投与経路等は、通常の医薬製剤のそれらと同様のものとするができる。即ち、上記医薬製剤としては、本発明化合物の有効量を含有する錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤(液剤、懸濁剤)等が挙げられる。上記各種形態の製剤は、いずれも常法に従い調製され、その際用いられる担体も慣用される各種のものでよい。例えば錠剤は、本発明化合物を有効成分として、これをゼラチン、デンプン、乳糖、ステアリン酸マグネシウム、滑石、アラビアゴム等の賦形剤と混合して賦形される。カプセル剤は上記有効成分を、不活性な製剤充填剤もしくは稀釈剤と混合し、硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。注射剤等の非経口投与剤は、有効成分としての本発明化合物を滅菌した液体担体に溶解乃至懸濁させて製造され、その際用いられる好ましい液体担体は水及び生理食塩水であり、調製される注射剤等には更に通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加することもできる。更に、上記各種形態の医薬製剤中には、必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を含有させることもできる。

【0035】上記医薬製剤中に有効成分として含有されるべき本発明化合物の量は、特に限定されず広範囲から適宜選択できるが、通常全医薬製剤組成物中に1~70重量%程度、好ましくは1~30重量%程度とするのがよい。

【0036】上記で調製される医薬製剤の投与方法は特に制限されず、例えば錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤等は経口投与され、また注射剤(液剤、懸濁剤等)は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与されるか又は必要に応じて単独で筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与される。

【0037】更に上記医薬製剤の投与量は、用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等により適宜選択されるが、通常有効成分である本発明化合物の量が1日当たり体重1kg当たり約0.1~1000mg程度とするのがよく、該製剤は1日に1~4回に分けて投与することができる。また投与単位形態中には有効成分を約1~600mg程度含有させるのがよい。

【0038】

【実施例】以下、本発明を更に詳細に説明するため、本

発明薬剤の製剤例を挙げ、次いで本発明化合物の薬理試験例を挙げる。

#### 【0039】製剤例1

7-(3-メチル-1-ピペラジニル)-1-シクロプロピル-6-フルオロ-5-メチル-1,4-ジヒドロ-4-オキソキノリン-3-

カルボン酸	150g
アピセル(商標名、旭化成社製)	40g
コーンスターチ	30g
ステアリン酸マグネシウム	2g
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	10g
ポリエチレングリコール-6000	3g
ヒマシ油	40g
エタノール	40g

本発明有効成分化合物、アピセル、コーンスターチ及びステアリン酸マグネシウムを混合研摩後、糖衣R10mmのキネで打錠する。得られた錠剤をヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリエチレングリコール-6000、ヒマシ油及びエタノールからなるフィルムコーティング剤で被覆を行ない、フィルムコーティング錠を製造する。

#### 【0040】製剤例2

7-(3-メチル-1-ピペラジニル)-1-シクロプロピル-6-フルオロ-5-メチル-1,4-ジヒドロ-4-オキソキノリン-3-

カルボン酸	150g
クエン酸	1.0g
ラクトース	33.5g
リン酸二カルシウム	70.0g
ブルロニックF-68	30.0g
ラウリル硫酸ナトリウム	15.0g
ポリビニルピロリドン	15.0g
ポリエチレングリコール (カルボワックス1500)	4.5g
ポリエチレングリコール (カルボワックス6000)	45.0g
コーンスターチ	30.0g
乾燥ステアリン酸ナトリウム	3.0g
乾燥ステアリン酸マグネシウム	3.0g
エタノール	適量

本発明有効成分化合物、クエン酸、ラクトース、リン酸二カルシウム、ブルロニックF-68及びラウリル硫酸ナトリウムを混合する。

【0041】上記混合物をNo.60スクリーンでふるい、ポリビニルピロリドン、カルボワックス1500及び同6000を含むアルコール製溶液で湿式粒状化する。必要に応じてアルコールを添加して粉末をペースト状塊にする。コーンスターチを添加し、均一な粒子が形成されるまで混合を続ける。混合物をNo.10スクリーンを通過させ、トレイに入れ、100℃のオーブンで

12～14時間乾燥する。乾燥粒子をNo. 16スクリーンでふるい、乾燥ラウリル硫酸ナトリウム及び乾燥ステアリン酸マグネシウムを加えて混合し、打錠機で所望の形状に圧縮する。

【0042】上記の芯部をワニスで処理し、タルクを散布し、湿気の吸収を防止する。芯部の周囲に下塗り層を被覆する。内服用のために十分な回数のワニス被覆を行なう。錠剤を完全に丸く且つ平滑にするために更に下塗り層及び平滑被覆が適用される。所望の色合いが得られるまで着色被覆を行なう。乾燥後、被覆錠剤を磨いて均一な光沢の錠剤にする。

#### 【0043】薬理試験

RPMI-1640培地（ペニシリン100単位/ml、ストレプトマイシン0.1μg/mlを含む）に、10%健常人末梢血（ヘパリン添加）、試験化合物及びリポポリサッカライド（LPS、1μg/ml）を加えて、5%CO<sub>2</sub>を含有するインキュベーター内で、37℃、18～24時間培養し、この培養上清を遠心操作にて回収した。

【0044】LPS刺激によって細胞から遊離されたサイトカインの測定はサンドイッチELISA法を用いた。即ち、各サイトカインに対するマウスモノクローナル抗体を固相化しブロッキング処理をしたELISA用96穴プレートに、試料を加えて反応させた。反応後洗浄し、次に各サイトカインに対するウサギポリクローナル抗体を加え更に反応させた。プレートを洗浄後、ホー

スラディッシュ パーオキシダーゼ（horseradish peroxidase (POD)）標識抗ウサギグロブリンを加え反応させた。未結合POD標識抗ウサギグロブリンを洗浄除去し、基質溶液（オルトフェニレンジアミン及び過酸化水素）を添加して反応後、492nmでの吸光度を測定し、各サイトカインの量を各々の標準曲線より求めた。各サイトカインの遊離抑制率（%）は次式で求めた。

#### 【0045】

$$\text{遊離抑制率 (\%)} = 100 \times (1 - T \div C)$$

但し、Tは試験化合物を加えた培養上清中のサイトカイン量を、Cは溶媒を加えた培養上清中のサイトカイン量を示す。

【0046】試験化合物として7-（3-メチル-1-ビペラジニル）-1-シクロプロピル-6-フルオロ-5-メチル-1,4-ジヒドロ-4-オキシキノリン-3-カルボン酸を $3 \times 10^{-6}$  g/ml用いた時における各サイトカインの遊離抑制率を下記表1に示す。

#### 【0047】

【表1】

測定サイトカイン	遊離抑制率
TNF- $\alpha$	39%
IL-6	59%
IL-8	24%
IFN- $\gamma$	87%

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

A61K 31/495

識別記号

AED

庁内整理番号

F I

技術表示箇所